

EVALUASI KESEPADANAN MUTU GIZI TEMPE KEDELAI PANGAN REKAYASA GENETIK (PRG) DAN NON-PRG SERTA DAMPAK KONSUMSINYA PADA TIKUS PERCOBAAN

(The nutritional substantial evaluation of tempe made from Genetically Modified [GM] and non-GM soybean and its effects to the experimental rats)

Dadi Hidayat Maskar¹, Hardinsyah², Evy Damayanthi², Made Astawan^{3*}, Tutik Wresdiyati⁴

¹USSEC Soyfood Program Indonesia/Forum Tempe Indonesia, Jl. Cijaha II No. 12,
Taman Yasmin Sektor V, Bogor 16113

²Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

³Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

⁴Departemen Kedokteran hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of tempe that were made from Genetically Modified (GM) and non-GM soybean on protein quality, malondialdehyde (MDA) levels, intracellular antioxidant superoxide dismutase (SOD) activity in the liver and kidneys, as well as spermatozoa profile of experimental rats. Fourty five Sprague Dawley rats divided into eight treatment groups and one control, fed with tempe and soybean from GM and non-GM at 10% and 20% concentrations for 90 days. The results showed that there was no significant difference in term of protein quality, tempe made from GM soybean is substantially equivalent with tempe made from non-GM soybean. Results showed that group which was given ration of 10% protein from conventional soybean had lower liver and kidney MDA levels as compared to GM tempe 10% and 20% groups, but was not significant compared to conventional soybean 20% and casein 10% groups. While the value of liver and kidney SOD activity were not significantly different ($p > 0.05$) between the groups of rats. There was no significant differences among the spermatozoa profiles treatment groups and control and they were within normal condition. Results of protein quality, MDA, SOD, and spermatozoa profile showed that tempe made from GM soybean was substantially equivalent with the non-GM soybean.

Keywords: GM soybean, MDA, non-GM tempe, SOD, spermatozoa profile

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh tempe Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan non-PRG meliputi kualitas protein, kadar malondialdehida (MDA) hati dan ginjal, aktivitas superoksida dismutase (SOD) hati dan ginjal, dan profil spermatozoa pada tikus percobaan. Sebanyak 45 tikus terbagi ke dalam delapan perlakuan dan satu kontrol yang diberikan perlakuan dengan ransum tempe dan kedelai, baik PRG maupun non-PRG, dengan konsentrasi 10% dan 20% selama 90 hari. Hasil percobaan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam kualitas protein, tempe PRG memiliki nilai yang sama dengan tempe non-PRG. Tikus yang diberi ransum 10% protein kedelai non-PRG mempunyai nilai MDA hati dan ginjal yang lebih rendah dibandingkan dengan tempe PRG 10% dan 20%, tetapi tidak signifikan dengan kelompok kedelai non-PRG 20% dan kasein 10%. Sementara itu, nilai SOD hati dan ginjal tidak signifikan antar grup perlakuan ($p > 0,05$). Tidak ada perbedaan yang signifikan pada profil spermatozoa antar perlakuan. Hasil dari kualitas protein, MDA, SOD, dan profil spermatozoa menunjukkan bahwa kedelai dan tempe PRG memiliki kesamaan substansial dengan kedelai dan tempe non-PRG.

Kata kunci: MDA, profil spermatozoa, SOD, tempe kedelai PRG, tempe kedelai non-PRG

*Korespondensi: Telp: +628161374074, Surel: mastawan@yahoo.com

PENDAHULUAN

Pangan berbahan kedelai seperti tempe, tahu, susu kedelai, *miso* dan *natto* telah sejak lama menjadi bagian dari menu makanan tradisional di Asia, termasuk Indonesia, merupakan pangan penyumbang protein berkualitas tinggi dan asam lemak yang menguntungkan bagi kesehatan (Messina *et al.* 2011). Tempe merupakan produk olahan fermentasi kedelai yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia (Astawan 2008). Di sisi lain, rendahnya produksi kedelai di Indonesia mengakibatkan para produsen olahan kedelai, terutama tempe dan tahu menggantungkan usahanya dari bahan impor. Menurut data BPS (2013), produksi kedelai nasional pada tahun 2010 sebesar 907,03 ribu ton, mengalami penurunan menjadi 843,15 ribu ton biji kering pada tahun 2012. Kebutuhan kedelai nasional selama lima tahun (tahun 2010-2014) sebesar 2,3 juta ton biji kering per tahun, sebagian besar dipenuhi oleh kedelai impor yang berasal dari negara yang mengadopsi budidaya kedelai transgenik. Oleh sebab itu, sebagian besar kedelai yang digunakan sebagai bahan baku tempe merupakan Produk Rekayasa Genetik (PRG) atau GMO (*Genetically Modified Organism*). Kedelai PRG merupakan varietas yang sudah dimodifikasi secara genetik untuk menghasilkan kedelai yang memiliki berbagai keunggulan, seperti memiliki karakteristik lebih tahan terhadap penyakit dan hama, lebih tahan terhadap herbisida, dan memiliki ukuran biji lebih besar.

Terdapat persepsi negatif akan pangan transgenik karena adanya kekhawatiran akan sifat-sifat baru yang dimiliki tanaman dapat memberikan ekspresi protein baru akibat gen dari spesies lain yang dapat memunculkan toksisitas dan alergi baru. Selain manfaat kesehatan konsumsi kedelai yang telah diketahui secara luas, terdapat pula kekhawatiran akan konsumsi kedelai terhadap kelainan hormonal dan fungsi reproduksi pria (Chavarro *et al.* 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kesepadanan mutu protein tempe dan kedelai berbahan PRG dan non-PRG serta dampak konsumsinya terhadap kadar MDA, aktivitas SOD dan profil spermatozoa tikus percobaan. Penelitian ini terdiri atas tahap pendahuluan dan intervensi.

METODE

Desain, tempat, dan waktu

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental. Penelitian diawali dengan penelitian

pendahuluan yaitu pembuatan tempe yang dilaksanakan di Rumah Tempe Indonesia (RTI), Bogor. Tahap penelitian intervensi pada tikus percobaan (*in-vivo*) dilaksanakan di Laboratorium Hewan *Southeast Asian Food Agricultural Science Technology Center* (SEAFST Center), Institut Pertanian Bogor. Perlakuan dan persiapan organ untuk analisis profil spermatozoa dan pengamatan histologi sel dilaksanakan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah kedelai PRG (Pangan Rekayasa Genetik) dan kedelai non-PRG sebagai ransum tikus percobaan dan tikus putih galur *Sprague dawley* sebagai hewan percobaan. Kedelai yang digunakan dalam pembuatan tempe adalah kedelai (*Glycine max*) jenis PRG dan non-PRG impor asal Amerika Serikat yang diperoleh dari KOPTI Kabupaten Bogor dan telah memiliki surat izin peredaran berdasarkan Keputusan Kepala BPOM No. HK.04.1.52.04.11.03588 Tahun 2011 tentang Izin Peredaran Pangan Komoditas Kedelai PRG Event GTS 40.3-2. Untuk kedelai jenis non-PRG dilengkapi dengan sertifikat bebas GMO (*Genetically Modified Organism*). Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley* berjenis kelamin jantan, usia saphi 23 hari, dengan komposisi ransum mengacu pada standar AOAC (1995). Pemilihan tikus jantan dikarenakan pada penelitian ini juga melihat profil sel spermatozoa. Komposisi penyusun ransum tikus dibedakan menjadi dua jenis yakni ransum dengan tempe kedelai PRG dan tempe kedelai non-PRG, dan juga kasein (protein standar).

Alat utama yang digunakan dalam penelitian adalah kandang metabolik, wadah minum, wadah pakan, botol kaca, timbangan bahan, timbangan tikus, *refrigerator*, dan juga alat-alat untuk analisis proksimat.

Tahapan penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap yaitu tahap pembuatan tempe, pembuatan tepung tempe, pembuatan tepung kedelai, pembuatan ransum, dan uji pengaruh konsumsi kedelai dan tempe berbahan PRG dan non-PRG secara *in vivo*.

Tahap pembuatan tempe. Proses pembuatan tempe dilakukan dengan menerapkan prinsip *Good Hygienic Practices* (GHP) di Rumah Tempe Indonesia (RTI) Bogor sesuai metode Astawan *et al.* (2015), dengan tahapan pembersihan atau penyortiran kedelai, perendaman menggunakan air selama 1 jam, perebusan selama 30 menit,

perendaman kembali selama 12 jam dan pengupasan kulit ari. Kedelai yang telah dikupas kulit arinya dibersihkan dan dipisahkan dari tunas yang telah tumbuh, dan disiram dengan air panas. Setelah itu, kedelai didinginkan lalu diberi ragi secara merata kemudian dikemas dan diinkubasi selama 40 jam.

Tahap persiapan hewan percobaan. Tikus jantan yang digunakan dalam penelitian ini dalam usia sapih 23 hari. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik dengan tutup terbuat dari kawat ram dan dialas sekam. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum* (Muchtadi *et al.* 1992). Lingkungan kandang dibuat agar tidak lembab, ventilasi yang cukup serta penyinaran yang cukup dimana lamanya terang 12 jam dan lamanya gelap 12 jam. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang per kelompok perlakuan. Hewan percobaan terlebih dahulu dipelihara selama satu minggu sebelum diberi perlakuan agar dapat menyesuaikan dengan lingkungan.

Tahap pembuatan ransum. Pembuatan ransum tikus percobaan dibedakan berdasarkan sumber proteinnya, yaitu ransum tempe PRG, ransum tempe non-PRG, ransum kedelai PRG, ransum kedelai non-PRG, dan ransum kasein sebagai standar, dengan konsentrasi protein 10% dan 20%. Tempe dan kedelai rebus ditepungkan terlebih dahulu untuk memudahkan saat mencampur bahan-bahan ransum. Ransum yang diberikan disesuaikan dengan kebutuhan harian tikus dan disusun berdasarkan AOAC (2005).

Uji pengaruh konsumsi kedelai dan tempe PRG dan non-PRG secara in vivo. Sebanyak 45 ekor tikus diseleksi berdasarkan keseragaman bobot tubuh dan dibagi menjadi sembilan kelompok perlakuan sesuai jenis ransumnya, yaitu (1) 10% protein dari tempe PRG, (2) 10% protein dari tempe non-PRG, (3) 20% protein dari tempe PRG, (4) 20% protein dari tempe non-PRG, (5) 10% protein dari kedelai PRG, (6) 10% protein dari kedelai non-PRG, (7) 20% protein dari kedelai PRG, (8) 20% protein dari kedelai non-PRG, dan (9) 10% protein dari kasein. Setiap kelompok tikus memiliki perbedaan bobot kurang dari 10 g dan antar tikus dalam setiap kelompok memiliki perbedaan maksimal 5 g. Selama masa percobaan dilakukan pengamatan terhadap konsumsi ransum setiap hari dan berat badan tikus setiap enam hari sekali.

Penentuan parameter mutu protein. Untuk evaluasi mutu protein diperoleh dari pengamatan berat badan, konsumsi ransum, serta berat feses dan urin hanya selama 28 hari. Beberapa parameter yang dianalisis pada penelitian ini adalah *Feed Conversion Efficiency* (FCE),

Protein Efficiency Ratio (PER), *Net Protein Ratio* (NPR), *True Digestibility* (TD), *Biological Value* (BV), dan *Net Protein Utilization* (NPU) dengan pengamatan hanya terhadap lima perlakuan yaitu (1) 10% protein dari tempe PRG, (2) 10% protein dari tempe non-PRG, (3) 10% protein dari kedelai PRG, (4) 10% protein dari kedelai non-PRG, dan (5) 10% protein dari kasein

Penentuan parameter kadar MDA, SOD, dan Profil Spermatozoa. Untuk evaluasi kadar MDA, SOD, dan profil spermatozoa diperoleh dari hasil pengamatan selama 90 hari terhadap sembilan perlakuan yaitu (1) 10% protein dari tempe PRG, (2) 10% protein dari tempe non-PRG, (3) 20% protein dari tempe PRG, (4) 20% protein dari tempe non-PRG, (5) 10% protein dari kedelai PRG, (6) 10% protein dari kedelai non-PRG, (7) 20% protein dari kedelai PRG, (8) 20% protein dari kedelai non-PRG, dan (9) 10% protein dari kasein. Percobaan selama 90 hari bertujuan untuk memperoleh gambaran sub-kronis yang mungkin terjadi sesuai pedoman *European Food Safety Authority* (Suwarno *et al.* 2014). Sedangkan ransum dengan komposisi 20% protein dari tempe dan kedelai rebus dibuat dengan tujuan untuk mengevaluasi dampak yang tidak diinginkan jika dosis konsumsinya dinaikkan hingga dua kali lipat.

Persiapan dan pembedahan sampel organ untuk analisis. Pembedahan dilakukan terhadap tikus percobaan untuk analisis MDA, SOD, dan profil spermatozoa di awal percobaan sebagai data awal kondisi tikus (*base line*) dan 90 hari masa percobaan. Tikus yang akan dibedah, dibius dengan campuran larutan *ketamine* dan *xylazine*. Organ tikus (ginjal, testis, dan hati) diambil dengan gunting bedah dan pinset, serta ditimbang dengan neraca analitik. Jaringan hati, ginjal dan testis tikus percobaan disampling untuk analisis histologi untuk mengetahui morfologi umum dari jaringan tersebut.

Analisis kadar malondialdehida (AOAC 2005). Analisis tingkat stres oksidatif mengukur malondialdehida (MDA) sebagai hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh dalam hati/ginjal dengan membandingkannya dengan kurva standar TEP (*tetraetoksi propana*). Sebanyak 1 g sampel hati atau ginjal dihancurkan dan dihomogenisasi dengan ditambahkan 4 ml larutan PBS (*phosphate buffer saline*) yang mengandung 0,15 M. Homogenat kemudian disentrifus 3.000 rpm dengan jari-jari sentrifus sebesar 17,90 cm selama 20 menit sehingga diperoleh supernatan jernih. Untuk tahap analisis, 1 ml supernatan hati atau larutan kerja standar TEP dicampur dengan 4 ml larutan HCl 0,25 N dingin yang mengandung

TCA, TBA, dan BHT. Larutan kemudian divortex dan dipanaskan 80°C menggunakan penangas air selama 1 jam. Setelah dingin, larutan disentrifus 3.000 rpm. Kemudian diukur absorbansi supernatan jernih pada panjang gelombang 532 nm dan dibandingkan dengan kurva standar TEP untuk menghitung kadar MDA sampel.

Analisis aktivitas SOD. Sampel hati atau ginjal dihancurkan dan diekstraksi dengan buffer fosfat pH 7, dengan perbandingan 1:10. Hasil ekstraksi disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm dengan jari-jari sentrifus sebesar 17,90 cm selama 10 menit dalam keadaan dingin. Pengukuran serapan dilakukan dengan cara memasukkan 2.800 µl buffer natrium karbonat pH 10,2, 100 µl sampel yaitu supernatan yang mengandung SOD dan 100 µl larutan epinefrin ke dalam tabung reaksi. Kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 480 nm pada menit ke 1, 2, 3, dan 4.

Analisis profil spermatozoa. Metode pengamatan motilitas spermatozoa mengikuti metode Kilawati (2004), yaitu satu tetes sperma diletakkan di atas gelas objek kemudian ditambahkan satu tetes aquades steril, kemudian diaduk rata dan ditutup dengan gelas penutup serta diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Metode penilaian motilitas sperma menurut Hag dalam Toelihere (1985) adalah nilai 0, spermatozoa immotil atau tidak bergerak; nilai 1, gerakan berputar di tempat; nilai 2, gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang; nilai 3, antara 50% sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa; nilai 4, pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil; dan nilai 5, gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat menunjukkan 100% motil aktif.

Pemrosesan dan pewarnaan jaringan dengan Hematoksin Eosin (HE). Sesaat setelah pengambilan contoh, jaringan testis dari kesembilan kelompok tikus percobaan difiksasi dalam

larutan Bouin selama 24 jam, yang kemudian diikuti dengan proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat sebelum dilakukan *embedding* dalam paraffin. Potongan jaringan (5 µm) selanjutnya diproses dengan pewarnaan umum hematoksin eosin (HE) untuk mengetahui morfologi umum jaringan testis. Potongan jaringan testis tikus yang sudah diwarnai dengan HE diamati dibawah mikroskop (Wresdiyati *et al.* 2006). Penghitungan jumlah sel-sel spermatogenik dilakukan menggunakan *software ImageJ* dan difoto dengan alat *Dino Eye*.

Pengolahan dan analisis data

Analisis dilakukan dengan metode analisis *One Way ANOVA*. Jika terdapat perlakuan yang menunjukkan perbedaan yang nyata atau sangat nyata, dilakukan uji lanjut menggunakan uji jarak Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total konsumsi dan kenaikan berat badan

Rata-rata konsumsi ransum, total asupan dan kenaikan berat badan tikus selama 28 hari pengamatan disajikan pada Tabel 1. Jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap total konsumsi ransum dan total asupan protein ($p < 0,01$). Secara keseluruhan total konsumsi ransum tempe dan kedelai lebih rendah dibandingkan ransum kasein. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan serat pada kedelai dan tempe yang cukup tinggi. Kadar serat dalam ransum menyebabkan tikus lebih cepat kenyang (Astawan *et al.* 2005). Anderson *et al.* (1999) menyatakan bahwa tempe dapat mempertahankan glukosa darah tikus lebih stabil serta tidak mudah lapar karena memiliki indeks glikemik yang rendah.

Tabel 1 menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap kenaikan berat badan tikus ($p > 0,05$). Menurut Mursyid *et al.* (2013), tempe sebagai sumber protein nabati memiliki kualitas protein yang sama baiknya dengan protein hewani (kasein).

Tabel 1. Jumlah konsumsi ransum tikus selama 28 hari percobaan

Kelompok perlakuan	Total konsumsi ransum ¹ (g)	Total asupan protein ¹ (g)	Perubahan berat badan ² (g)
T-PRG10%	475,90±38,64 ^a	48,08±3,90 ^a	71,80±16,79 ^a
T-NPRG 10%	562,07±14,27 ^{bc}	59,04±1,49 ^b	98,60±8,73 ^a
K- PRG 10%	549,72±44,00 ^b	53,65±4,29 ^{ab}	83,20±17,10 ^a
K- NPRG 10%	570,47±52,33 ^{bc}	58,10±5,33 ^b	87,20±29,32 ^a
Kasein	627,62±27,46 ^c	66,65±2,91 ^c	104,40±14,15 ^a

Keterangan: ¹Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak *Duncan*; ²Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$); T-PRG: Tempe PRG, T-N PRG: Tempe *non*-PRG, K-PRG: Kedelai PRG, K-N PRG: Kedelai *non*-PRG

Nilai gizi protein berdasarkan metode pertumbuhan

Penetapan nilai gizi protein dengan metode pertumbuhan menghubungkan secara kualitatif antara laju pertumbuhan hewan percobaan dengan jumlah konsumsi protein (Muchtadi *et al.* 1992). Data pada Tabel 2 menunjukkan jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai *Feed Conversion Efficiency* (FCE). Nilai FCE perlakuan ransum tempe dan kedelai tidak berbeda nyata dengan perlakuan kasein sebagai kontrol. Kiers *et al.* (2003) menjelaskan bahwa kedelai yang difermentasi dengan menggunakan *Rhizopus sp* mengalami peningkatan FCE sebesar 3%.

Metode yang digunakan untuk melihat hubungan antara kenaikan berat badan dengan konsumsi protein adalah metode PER. Hoffman dan Falvo (2004) menjelaskan bahwa PER digunakan untuk mengetahui seberapa efektif protein yang terdapat dalam bahan pangan memengaruhi pertumbuhan hewan coba. PER sampel protein yang diujicoba dibandingkan dengan PER kasein sebagai standar. Kasein digunakan sebagai standar karena kandungan asam amino esensial yang lengkap untuk pertumbuhan hewan coba. Berdasarkan Tabel 2, terlihat bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai PER. Nilai PER perlakuan ransum tempe dan kedelai PRG dan non-PRG tidak berbeda nyata dengan perlakuan kasein sebagai kontrol.

Pada penentuan parameter *Net Protein Ratio* (NPR) diperlukan data penurunan berat badan yang dihitung sebagai rata-rata dari kelompok tikus yang memperoleh ransum non-protein (Astawan *et al.* 2015). Berdasarkan hasil NPR pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai NPR. Nilai NPR perlakuan ransum tempe dan kedelai PRG dan non-PRG tidak berbeda nyata dengan perlakuan kasein sebagai kontrol. Hasil dari nilai PER dan NPR dapat memberikan gambaran bahwa asupan protein yang terdapat dalam ransum tersebut dapat digunakan dan dimanfaatkan

kan dengan baik oleh tikus percobaan, baik untuk pertumbuhan maupun untuk pemeliharaan tubuh.

Nilai gizi protein berdasarkan metode keseimbangan nitrogen

Daya cerna protein adalah jumlah fraksi nitrogen dari bahan pangan yang dapat diserap oleh tubuh. Tidak semua protein dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan menjadi asam-asam amino. Daya cerna protein menentukan ketersediaan asam amino secara biologis. Daya cerna ini berarti kemampuan suatu protein untuk dihidrolisis menjadi asam-asam amino oleh enzim-enzim protease (Muchtadi *et al.* 1992). Pengukuran kualitas protein dengan metode keseimbangan nitrogen dapat dilakukan dengan parameter *true protein digestibility* (TPD), *biological value* (BV), serta *net protein utilization* (NPU).

Tabel 3 menunjukkan jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap nilai TPD ($p < 0,01$). Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa nilai TPD kelompok tempe non-PRG 10% tidak berbeda nyata dengan kelompok kedelai PRG 10% dan kedelai non-PRG 10%, namun sangat nyata lebih tinggi dibandingkan kelompok tempe PRG 10% dan sangat nyata lebih rendah dibandingkan kelompok kasein. Perbedaan nilai TPD dari keempat jenis perlakuan selain kasein diduga disebabkan oleh perbedaan jenis kedelai yaitu jenis kedelai PRG dan non-PRG. Menurut Gu *et al.* (2010) perbedaan jenis kedelai berpengaruh terhadap kandungan tripsin inhibitor dan lektin yang dapat menurunkan daya cerna protein. Semakin tinggi kandungan senyawa tersebut, maka semakin menurun juga kemampuan tubuh untuk mencerna protein.

Kadar MDA hati dan ginjal

Mah *et al.* (2011) menyebutkan malondialdehida (MDA) merupakan hasil proses oksidasi lemak tidak jenuh jamak oleh senyawa radikal bebas di dalam tubuh, sehingga MDA dapat digunakan sebagai indikator keberadaan radikal bebas dan indikator kerusakan oksidatif membran

Tabel 2. Kualitas protein tempe dan kedelai berdasarkan metode pertumbuhan tikus percobaan

Kelompok perlakuan	<i>Feed conversion efficiency</i>	<i>Protein efficiency ratio</i> (%)	<i>Net protein ratio</i> (%)
T-PRG10%	19,28±1,94	1,91±0,19	2,16±0,19
T-NPRG 10%	18,16±2,73	1,72±0,26	1,94±0,24
K-PRG 10%	19,74±0,67	2,02±0,66	2,25±0,06
K- NPRG 10%	17,60±1,22	1,73±0,12	1,94±0,11
Kasein	18,32±2,03	1,72±0,19	1,91±0,18

Keterangan:

T-PRG: Tempe PRG, T-N PRG: Tempe non-PRG, K-PRG: Kedelai rebus PRG, K-N PRG: Kedelai rebus non-PRG

Tabel 3. Kualitas protein tempe dan kedelai berdasarkan metode keseimbangan nitrogen tikus percobaan

Kelompok perlakuan	<i>True protein digestibility</i> ¹ (%)	<i>Biological value</i> ² (%)	<i>Net protein utilization</i> ² (%)
T-PRG10%	99,12±0,11 ^a	99,71±0,42 ^b	98,84±0,47 ^{ab}
T-NPRG 10%	99,24±0,07 ^b	99,80±0,13 ^b	99,04±0,14 ^b
K- PRG 10%	99,27±0,04 ^b	99,15±0,29 ^a	98,43±0,30 ^a
K- NPRG 10%	99,20±0,04 ^{ab}	99,22±0,14 ^a	99,43±0,15 ^a
Kasein	99,24±0,04 ^{ab}	99,18±0,15 ^a	98,44±0,15 ^a

Keterangan:

¹Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan uji jarak *Duncan*; ²Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak *Duncan*; T-PRG: Tempe PRG, T -N PRG: Tempe *non*-PRG, K-PRG: Kedelai rebus PRG, K-N PRG: Kedelai rebus *non*-PRG

sel di dalam tubuh. Menurut Lu (2006) organ hati dan ginjal merupakan organ yang penting untuk mengetahui dampak toksisitas. Organ hati yang digunakan pada analisis MDA dan SOD merupakan organ yang memiliki fungsi utama berupa tempat penyimpanan, metabolisme, dan biosintesis zat gizi. Sedangkan ginjal merupakan organ yang berfungsi untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme.

Hasil analisis MDA dan SOD hati dan ginjal tikus disajikan pada Tabel 4. Jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap nilai MDA hati ($p < 0,01$), tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap nilai MDA ginjal tikus. Hasil uji lanjut dengan uji jarak *Duncan* menunjukkan bahwa nilai MDA hati kelompok kedelai PRG 20% sangat nyata lebih tinggi dibandingkan kelompok tempe *non*-PRG 10% dan 20%, kedelai PRG 10%, kedelai *non*-PRG 10% dan 20%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok tempe PRG 10% dan 20%. Menurut Astawan (2008) kadar isoflavon

total yang terdapat pada kedelai mentah sebesar 140 mg per 100 g, sedangkan pada tempe sebesar 50 mg per 100 g. Perbedaan hasil kadar MDA pada masing-masing perlakuan diduga disebabkan oleh kandungan isoflavon yang dipengaruhi oleh jenis kedelai PRG dan *non*-PRG.

Devasagayam *et al.* (2004) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dalam tubuh melalui mekanisme pencegahan terbentuknya ROS, pencegahan ini melibatkan enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim SOD mempunyai peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di dalam hati. Selain ditemukan di organ hati, SOD juga ditemukan pada kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, dan timus (Halliwell & Gutteridge 1997). Jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai SOD hati

Tabel 4. Kadar MDA dan SOD hati dan ginjal tikus setelah 90 hari percobaan

Kelompok perlakuan	MDA hati ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ginjal ($\mu\text{mol/g}$)	SOD hati (unit/mg protein)	SOD ginjal (unit/mg protein)
T-PRG 10%	31,27±9,44 ^{bc}	19,62±9,44	412,79±61,21	439,67±29,27
T-N PRG 10%	12,72±2,05 ^a	10,76±2,05	332,14±41,39	412,79±53,76
T-PRG 20%	30,05±4,39 ^{bc}	17,57±4,39	332,14±65,44	430,71±34,32
T-N PRG 20%	21,00±3,49 ^{ab}	17,43±3,49	385,91±35,84	430,71±17,92
K- PRG 10%	15,67±1,62 ^a	11,79±1,62	359,03±53,76	448,63±17,92
K-N PRG 10%	16,94±5,73 ^a	9,14±5,73	350,07±68,63	448,63±17,92
K- PRG 20%	40,07±7,11 ^c	14,93±7,11	376,95±73,89	403,83±58,53
K-N PRG 20%	21,54±3,71 ^{ab}	15,85±3,71	367,99±97,06	457,59±20,69
Kasein	17,15±6,22	12,87±6,22	323,18±73,89	448,63±17,92

Keterangan:

Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak *Duncan*. T-PRG = Tempe PRG, T -N PRG = Tempe *non* PRG, K-PRG = Kedelai PRG, K-N PRG = Kedelai *non* PRG

dan ginjal. Dapat disimpulkan bahwa kandungan isoflavon pada tempe dan kedelai PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kadar SOD pada hati dan ginjal tikus percobaan untuk menghambat terbentuknya radikal bebas.

Profil organ testis dan spermatozoa

Hasil penimbangan berat testis tikus percobaan serta jumlah sel-sel spermatogenik disajikan pada Tabel 5. Hasil tersebut menunjukkan berat relatif testis tidak berbeda nyata antar jenis perlakuan ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan oleh kualitas protein pada semua kelompok tikus yang tidak berbeda nyata satu sama lain (Tabel 2). Jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap spermatogonium ($p < 0,01$). Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa spermatogonium ke-

lompok tempe non-PRG 20% sangat nyata lebih tinggi dibandingkan tempe PRG 20% dan tempe non-PRG 10%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok tempe PRG 10%, kedelai PRG dan non-PRG baik 10% maupun 20%. Jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah spermatisit primer dan sekunder.

Spermatogenesis merupakan proses pembelahan sperma dimana terjadi pembelahan secara mitosis dan meiosis sebagai fase-fase pendewasaan sperma di epididimis. Setiap satu spermatogonium akan menghasilkan empat sperma matang. Spermatogonium merupakan tahap pertama pada spermatogenesis yang dihasilkan oleh testis. Spermatisit primer merupakan mitosis dari spermatogonium dan spermatisit sekunder merupakan meiosis dari spermatisit

Tabel 5. Berat organ testis dan analisis mikroskopis spermatozoa tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	Berat testis (per 100 g bb tikus)	Spermatogonium	Spermatisit primer	Spermatisit sekunder
T-PRG 10%	0,50±0,0005	74,80±5,07 ^{ab}	65,00±10,46	144,80±21,11
T-N PRG 10%	0,47±0,0004	71,80±8,17 ^a	64,20±10,73	175,60±20,03
T-PRG 20%	0,37±0,0003	71,20±6,83 ^a	64,00±11,20	146,80±32,73
T-N PRG 20%	0,59±0,0060	87,20±13,57 ^b	75,00±7,52	158,40±25,60
K- PRG 10%	0,47±0,0007	81,00±7,14 ^{ab}	66,60±11,50	181,60±13,97
K-N PRG 10%	0,48±0,0007	75,40±5,73 ^{ab}	67,40±2,70	161,00±17,18
K- PRG 20%	0,34±0,0004	75,00±3,16 ^{ab}	74,00±3,16	175,40±10,53
K-N PRG 20%	0,38±0,0002	85,40±8,96 ^{ab}	69,60±9,40	168,80±32,80
Kasein	0,46±0,0005	88,20±5,40	78,40±5,46	167,00±9,82

Keterangan:

Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak *Duncan*. T-PRG = Tempe PRG, T-N PRG = Tempe non PRG, K-PRG = Kedelai PRG, K-N PRG = Kedelai non PRG

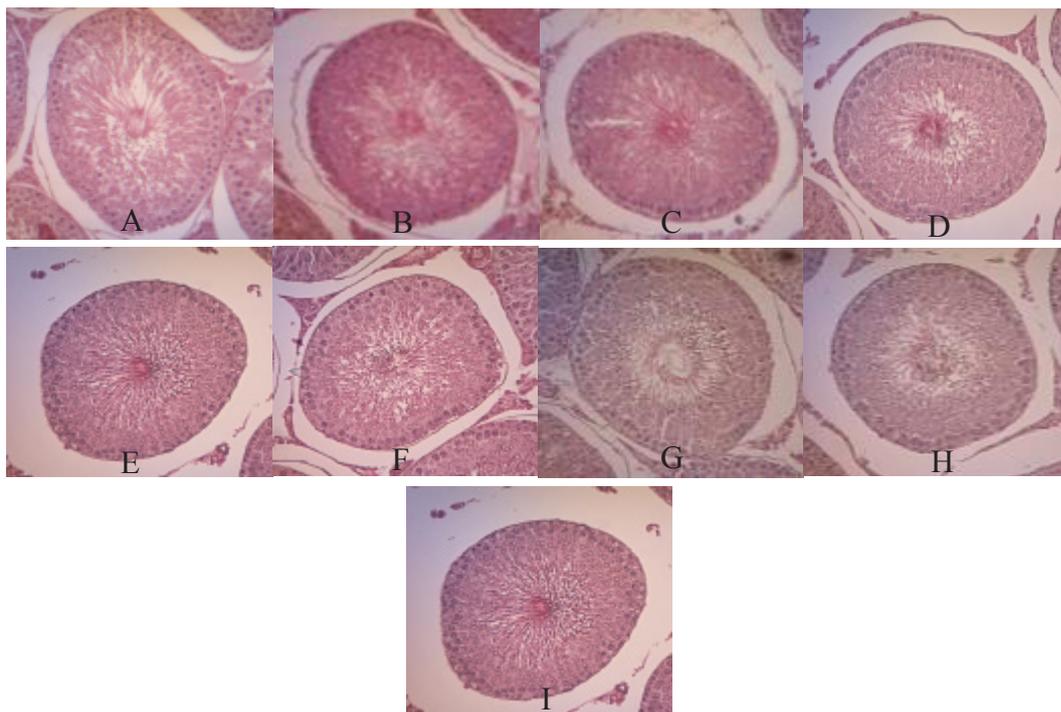
Tabel 6. Analisis mikroskopis spermatozoa

Perlakuan	Gerakan massa	Motilitas spermatozoa (%)	Gerakan individu (0-5)	Konsentrasi (juta/mL)	Abnormalitas spermatozoa (%)
T-PRG 10%	3,00±0,00	34,17±37,61	1,67±1,15	783,33±101,04	9,26±0,75 ^a
T-N PRG 10%	2,67±0,58	64,17±16,65	3,00±0,58	958,33±305,51	7,83±1,27 ^a
T-PRG 20%	2,67±0,58	48,33±28,87	1,67±0,58	875,00±204,63	27,40±14,80 ^c
T-N PRG 20%	2,33±0,58	68,33±9,46	2,67±0,58	975,00±303,11	12,33±6,27 ^{ab}
K- PRG 10%	2,33±0,58	76,67±2,89	2,33±0,00	733,33±162,66	12,51±8,54 ^{ab}
K-N PRG 10%	2,67±0,58	66,67±8,04	2,67±0,58	775,00±50,00	12,80±4,78 ^{ab}
K- PRG 20%	2,33±0,58	66,67±7,64	2,67±0,58	1108,33±298,26	9,76±4,41 ^a
K-N PRG 20%	2,83±0,58	69,17±5,77	3,17±0,29	791,67±94,65	8,53±1,14 ^a
Kasein	3,00±0,00	72,50±5,00	3,17±0,29	1241,67±160,73	7,40±1,11

Keterangan:

Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan uji jarak *Duncan*. T-PRG = Tempe PRG, T-N PRG = Tempe non PRG, K-PRG = Kedelai PRG, K-N PRG = Kedelai non PRG

Maskar dkk.



Keterangan:

A: Tempe PRG 10%; B: Tempe non PRG 10%; C: Tempe PRG 20%; D: Tempe nonPRG20%; E: Kedelai PRG 10%; F: Kedelai non PRG 10%; G: Kedelai PRG 20%; H:Kedelai non PRG 20%; I: Kasein

Gambar 1. Foto mikrograf tubuli seminiferi testis tikus setelah 90 hari

primer (Samuelson 2007). Foto mikrograf testis tikus setelah 90 hari percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 6 menyajikan hasil analisis mikroskopis spermatozoa yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan antar jenis perlakuan terhadap gerakan massa, motilitas spermatozoa, gerakan individu, dan konsentrasi spermatozoa.

Profil spermatozoa tikus percobaan semua kelompok perlakuan menunjukkan kualitas yang baik sesuai dengan pendapat Hafez (2000) karena motilitas individu rata-rata di atas 30% dan gerakan massa baik (2+). Penilaian motilitas spermatozoa yang progresif sangat penting untuk menunjukkan kualitas individu. Gerakan massa spermatozoa yang normal berkisar antara 2+ dan 3+. Terdapat perbedaan abnormalitas spermatozoa antar kelompok perlakuan, dimana kelompok perlakuan tempe PRG 20% memiliki nilai abnormalitas tertinggi yaitu 27,40%, tetapi ini masih dalam kisaran normal sesuai dengan

standar bahwa spermatozoa yang abnormal tidak boleh lebih dari 30%, karena memengaruhi fertilitas (Croxford *et al.* 2010). Hasil ini juga sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Perry *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa tidak ada efek samping dari konsumsi protein kedelai terhadap fungsi organ reproduksi jantan kera *Cynomolgus* dewasa (*Macaca fascicularis*).

KESIMPULAN

Tidak terdapat perbedaan kualitas protein antara kedelai dan tempe PRG dan non-PRG, dengan demikian kualitas protein tempe PRG sepadan dengan kualitas protein non-PRG. Hasil pemeriksaan MDA, SOD, dan profil organ reproduksi jantan menunjukkan bahwa mengonsumsi tepung tempe PRG dan non-PRG dalam jangka waktu yang lama tidak menyebabkan kelainan ataupun menimbulkan stres oksidatif (radikal bebas). Hal tersebut didukung dengan tidak

adanya berbagai kelainan pada tikus selama masa perlakuan. Dengan demikian tepung tempe dan tepung kedelai PRG dan non-PRG aman untuk dikonsumsi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada pemberi dana penelitian, yaitu Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kantor Pusat Jakarta melalui Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) atas nama Made Astawan, serta US. Soybean Export Council (USSEC) dan Forum Tempe Indonesia (FTI).

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of The Association of Official Analysis Chemist. Washington DC: AOAC Inc.
- Anderson JW, Smith BM, Washnock CS. 1999. Cardiocascular and renal benefit of dry bean and soybean intake. *Am J Clin Nutr* 70:464-474.
- Astawan M, Wresdiyati T, Hartanta AB. 2005. Pemanfaatan rumput laut sebagai sumber serat pangan untuk menurunkan kolesterol darah tikus. *Hayati* 12(1):23-27.
- Astawan M. 2008. Khasiat Warna-Warni Makanan. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Astawan M. 2008. Sehat dengan Tempe, Panduan Lengkap Menjaga Kesehatan dengan Tempe. Jakarta: Dian Rakyat.
- Astawan M, Wresdiyati T, Saragih AM. 2015. Evaluasi mutu protein tepung tempe dan tepung kedelai rebus pada tikus percobaan. *J Mutu Pangan* 2(1):11-17.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2013. Berita Resmi Statistik: Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai, No. 45/07/Th.XVI. 1 Juli 2013.
- Chavarro JE, Toth TL, Sadio SM, Hauser R. 2008. Soy food and isoflavone intake in relation to semen quality parameters among men from an infertility clinic. *Humm Reprod* 23:2584-90.
- Croxford, Thomas P, Nocholas H, McCormick, Shannon LK. 2010. Moderate zinc deficiency reduces testicular Zip6 and Zip10 abundance and impairs spermatogenesis in mice. *J Nutrition* 141:359-365.
- Devasagayam T, Tilak JC, Bolor K, Ketaki S, Ghaskadbi S, Lele RD. 2004. Review Article: free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi* 52:794-795.
- Gu C, Pan H, Sun Z, Qin G. 2010. Effect of soybean variety on anti-nutritional factors content, and growth performance and nutrient metabolism in rat. *Int J Mol Sci* 11, 1048-1056; DOI: 10.3390/ijms11031048
- Halliwell B, Gutterdige. 1997. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford University Press.
- Hafez B. 2000. Micromanipulation of Gametes and Embryos: In-Vitro Fertilization and Embryo Transfer (IVF/ET). In *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. (E.S.E. Hafez). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Hoffman JR, Falvo MJ. 2004. Protein-Which is best? *J Sport Sci Med* 3:118-130.
- Kiers JL, Meijer JC, Nout MJR, Rombouts FM, Nabuurs MJA, Meulen JVD. 2003. Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets. *J Appl Microbiol* 95:545. DOI:10.1046/j.1365-2672.2003.02011.
- Lu FC. 2006. Toksikologi Ginjal. Dalam *Toksikologi Dasar*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. p 224-235.
- Mah E, Noh SK, Ballard KD, Matos ME, Volek JS, Bruno RS. 2011. Postprandial Hyperglycemia Impairs Vascular Endothelial Function in Healthy Men by Inducing Lipid Peroxidation and Increasing Asymmetric Dimethylarginine: Arginine. *J Nutr* 141:1961-1968.
- Messina M. 2010. Insights gained from 20 years of soy research. *J Nutr* 140: 2289S-2295S.
- Messina M, Messina VL, Chan P. 2011. Soyfoods, hyperuricemia and gout: A review of the epidemiologic and clinical data. *Asia Pac J Clin Nutr* 20(3):347-358.
- Muchtadi M, Palupi NS, Astawan M. 1992. Metode Kimia Biokimia dan Biologi dalam Evaluasi Nilai Gizi Pangan Olahan. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Mursyid, Astawan M, Muchtadi D, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari SH, Suwarno M. 2013. Evaluasi nilai gizi protein tepung tempe yang terbuat dari varietas kedelai impor dan lokal. *Pangan* 23(1):1-107
- Perry DL, Spedick JM, McCoy TP, Adams MR, Franke AA, Cline JM. 2007. Dietary soy protein containing isoflavonoids does not adversely affect the reproductive tract of male *Cynomolgus Macaques (Macaca fascicularis)*.

Maskar dkk.

- cicularis*). J Nutr 137:1390-1394.
- Ramatina, Amalia L, Ekayanti I. 2014. Pengaruh suplemen antioksidan terhadap kadar malondialdehid plasma mahasiswa IPB. J Gizi Pangan 9(1):35-42.
- Samuelson DA. 2007. Textbook of Veterinary Histology. Missouri: Saunders Elsevier.
- Suwarno M, Astawan M, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari SH, Mursyid. 2014. Evaluasi keamanan tempe dari kedelai transgenik melalui uji subkronis pada tikus. J Veteriner 15(3):353-362.
- Toelihere MR. 1985. Fisiologi Reproduksi Ternak. Bandung: Angkasa.
- Wresdiyati T, Astawan M, Hastanti LY. 2006. Profil imunohistokimia antioksidan superoksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus di bawah kondisi hiperkolesterolemia. Hayati 13(3):85-89.